

66-

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

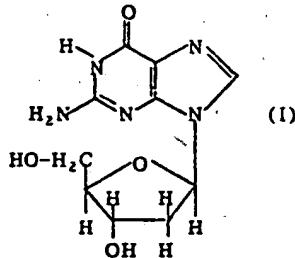
- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.

85-077283/13 602 D16 HOKR 28.07.83
 HOKURIKU PHARM KK *J6 0028-929-A
 26.07.83-JP-136734 (14.02.85) A61k-31/70 C07h-19/17
 Remedy for peptic ulcer - config. 2'-deoxy:guanosine

C85-033669 Use of 2'-deoxyguanosine of formula (I) for treating peptic ulcers is new:



(I) is a known cpd.

ADVANTAGE

B(4-B3, 12-E8) D(5-C6) 2

140

(I) has low toxicity. LD₅₀ (peroral; mouse) > 10,000 mg./kg.

ACTIVITY

The preventive effect of (I) against stress ulcers in rats is as follows:

	Peroral dose (mg./kg.)	Total ulcer length (mm.)	Inhibition (%)
Control	-	41.3 ± 3.46	-
(I)	25	23.1 ± 6.43	44

PREPARATION

(I) may be isolated from *Bacillus natts* H61 (see "Example").

EXAMPLE

Bacillus natts H61 (stock strain) was cultured, and the cultured medium was extd. with isopropanol, to obtain an isopropanol extract (270g.). This fraction (90g.) was dissolved in water (1 l.), and the resulting soln. was extd. with butanol, to obtain a butanol extract. This was subjected to

J60028929-A+

© 1985 DERWENT PUBLICATIONS LTD.
 128, Theobalds Road, London WC1X 8RP, England
 US Office: Derwent Inc. Suite 500, 6845 Elm St. McLean, VA 22101
Unauthorised copying of this abstract not permitted.

silicagel column chromatography, with a developer of CH_2Cl_2 /methanol, to obtain an S-fraction (3.29g.).

The S-fraction was dissolved in methanol, and the methanol-soluble part was subjected to Sephadex LH-20 column-elution with methanol, to obtain an L-fraction (513 mg.).

The L-fraction was dissolved in water, and the soin. was then subjected to XAD-4 column-elution with 50% methanol, to obtain an X_1 -fraction (103 mg.).

The X_1 -fraction was then further subjected to XAD-4 column-elution with 5% methanol, to obtain an X_2 -fraction (49g.). This was subjected to high speed column chromatography (YMC-Pack S-343) with 5% methanol, to obtain 18 mg. (I). (4ppW9LHDwgNo0/0).

J60028929-A

© 1985 DERWENT PUBLICATIONS LTD.

128, Theobalds Road, London WC1X 8RP, England

US Office: Derwent Inc. Suite 500, 6845 Elm St. McLean, VA 22101

Unauthorised copying of this abstract not permitted.

産物に亘れた抗腫瘍作用があることを見い出し、且つその活性成分を単離、精製して構成式 (1) で示される 2'-デオキシシグアノシンを得、この物が亘れた抗腫瘍作用を有し、医薬として極めて有用であると見い出し本発明を完成するに至った。

本発明の開化性固溶剤中の有効成分である前記式(1)で示される2'-デオキシグリシンは、生体細胞内においてターンベク質の合成を支配し、遗传情報の伝達を受け持つところのD.N.A.(デオキシリボ核酸)の構成成分であるスクレオシドと呼ばれるもの1つとして知られている公知の物質である。

從来、真起式(1)で示される2-アーティル
グリコジンの療理作用については、たとえば、
白血病細胞の増殖抑制作用 [Mol. Pharmacol.,
12, 177 (1976)], Cancer Biopath.,
Biophys., 1, 211 (1976), Cancer Res.,
41, 4493 (1981)] など、アーティル基
に対する感應性 [Science, 214, 1137] が
示されている。

シングは、たとえば、Chem. Ber., 93, 140 (1960) など、ドイツ特許第10-35148号等、に記載されている方法により得られるが、本発明者らが確実した如く、微生物の代謝産物中よりも得ることができ、その取得方法について以下酵母等により説明する。その際使用する微生物としては、たとえばパテルス・ナフ

これは既に工業技術院微生物工業技術研究所で
登録番号第71-28号(FERM-P-7128
)として販売されているものである。

(1981) 1) ニンニク田畠の分離田畠作用 [Experiments], 30, 1010 (1974).
 2) あるいは、サイクリック GMP エヌスルジエスチラニゼ田畠作用 [Biochem. Pharmacol.], 28, 1107 (1979). 3) デオキシグアノシンキナーゼ田畠作用 [J. Biol. Chem.], 245, 2276 (1970). 4) ヒドロキロターゼ田畠作用 [Biochem. Biophys. Acta], 81, 150 (1964). 等の酵素田畠作用が報告されているが、2'-デオキシグアノシンが抗腫瘍作用を有していることは何ら知られていなかつた。然るに、本団発明者らが、ナレトク園代用生産物について検査研究した結果、抗腫瘍活性成分として前記式 (1) で示される 2'-デオキシグアノシンを単離し、且つ 2'-デオキシグアノシンが消化性潰瘍治療剤として極めて有効であることを見い出し、本発明を完成するに至つたものである。

本発明の消化性潰瘍治療剤中の有効成分である構式(1)で示される2-デオキシグア

化ナトリウム 3 g, 食天 2.0 g 及び水 16 ml, 滅菌後 (pH 7.7) を 8:1 比の平板培地としたものに 2 メドウツ接種し、32°で 2 日間培養する。培養終了後、培養した菌体をかき集め、次いでかき集めた菌体をイソプロペノールで抽出する。イソプロペノール抽出物を減圧乾燥して、1.9

圖15ナを得る。内側の操作を18回くり返し
1分間270ナを得る。

得られた十分な27000例

卷之三

部をセッティング・クレスト・H-20カラム (50cm × 5.0mm) にかけ、メタノールで溶出し、溶出量 1200～2000ml の分画を擇め、減圧乾固してし分画 1.8ml を得る。し分画を水に溶か後、水で再質した XAD-4 カラム (3.0cm × 26.0cm) にかけ、水 2.5L で溶出後、5.0% メタノール 1.0L で溶出し、5.0% メタノール溶出部を減圧乾固して X1 分画 1.03ml を得る。X1 分画を更に、5.0% メタノールで再質した XAD-4 カラム (2.0cm × 15.0cm) にかけ、5% メタノールで溶出し、溶出量 8.0～6.0ml の分画を擇め、減圧乾固して X2 分画 4.9ml を得る。X2 分画を高速液体クロマトカラム (YMC-Pack S-343, 2.0mmφ × 2.50m) にかけ、5% メタノール (流速 9.9ml/分) により溶出し、溶出 4.6～5.2 分の分画を擇め、減圧乾固して 2-デオキシグアノシン 1.8ml を得る。水から再質して無色粉末 1.0ml を得、このものは溶出の 2-デオキシグアノシンと IR, MS スペクトルおよびシリカ

ゲル薄層クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーにて同定した。

本発明の消化性潰瘍治療剤中の有効成分である前記式 (1) で示される 2-デオキシグアノシンは、極めて優れた抗酸作用を有しているが、以下実験例 1 及び 2 においてその作用を示す。

実験例 1

〔幽門結石潰瘍に対する作用〕

4.8 時間絶食させた体重 18.0～21.0g のマウスにて、エタノール麻酔下で Shay の方法 (Gastricostomies, 5, 43 (1946)) に従って幽門部を結扎した。絶食、給水下で 1.0 時間放置後エターナルで致死せしめ、摘出した胃を 1.5% ホルマリンで 1.0 分間固定する。前胃部に発生した潰瘍を、Adami の方法 (Arab. Int. Pharmacodyn. Ther., 147, 118 (1960)) に従って、

下記の 6 段階の度量儀を用いて評価した。尚、被検薬は生理食塩水に溶解させ、幽門結石直後に十二指腸内に投与した。比較薬物として、本発明の 2-デオキシグアノシンと同様した構造を有するスクレオシドであるグアニシン、及び市販の抗酸薬であるシメタツンを用いた。結果は表 1 に示した通りである。2-デオキシグアノシンは、いずれの比較薬物よりも強い抗酸作用を有していることが得る。

1.0: 国度なし

1: 1～3個の小潰瘍 (直径 3mm 以下)

2: 3 個以上の小潰瘍又は大潰瘍

3: 1 個の大潰瘍と 3～5 個以上の小潰瘍

4: 5～6 個の大潰瘍

5: 穴孔性潰瘍

6: 死亡

実験例 2

〔ストレス潰瘍に対する作用〕

体重 24.0～26.0g のドンラック系雄性ラットを 1 群 8 匹使用し、高木らの方法 (

Japan J. Pharmacol., 18, 9 (1963)) に従った。2.4 時間絶食後、ストレス潰瘍形成のため拘束ケージ (東大器作型) に収容し、木板 3.3% の木板に胸部まで固定した。7

時間水投後エターナルで致死せしめ、摘出した胃を 1.5% ホルマリンで 1.0 分間固定する。

胃部に発生した潰瘍の度数 (一) を測定し、

一回も死亡の度数の度数を胃部潰瘍度数 (二)

と定めた。結果は表 2 に示す通りである。

本発明の 2-デオキシグアノシンは、比較薬物

より優れた抗酸作用を有する。

本発明の 2-デオキシグアノシンは、

胃部潰瘍に対する作用を有する。

本発明の 2-デオキシグアノシンは、

胃部潰瘍に対する作用を有する。

本発明の 2-デオキシグアノシンは、

胃部潰瘍に対する作用を有する。

実験例3

〔急性毒性試験〕

体重24～28gのddY系雄性マウスを1

匹10匹使用し、経口投与で行なった。LD₅₀

雄は投与後7日間の死亡率より、Litchfield-

Wilcoxon法により算出した。被投薬は、0.5%

カルボキシメチルセルロース水溶液に混ぜ、

0.2ml/10gの割合で投与した。結果は表3

の通りである。

表3

投与方法	LD ₅₀ mg/kg
経口	> 10000